Aus der Chem. Abteilung des Path. Instituts der Charité, Berlin.

Vergleich zwischen Menschenpankreas- und Menschenleberesterase

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde an der Friedrich Wilhelms-Universität zu Berlin

vorgelegt von

Ernst Tabor
aus Berlin

Tag der Promotion: 10. April 1936.

Buchdruckerei Rudolph Pfau, Berlin NW 7, Luisenstr. 21

88

Gedruckt mit Genehmigung
der
medizinischen Fakultät der Friedrich-Wilhelms-Universität Berlin

---

Dekan: Prof. Dr. Magnus

Referent: Privatdozent Dr. Ammon

Korreferent: Professor Dr. Rößle

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinem lieben Vater
in Dankbarkeit gewidmet.

Bei der Frage der stereochemischen Spezifität der Esterasen wurde bisher die Menschenpankreasesterase ganz vernachlässigt. Während über die Leberesterasen verschiedenster Herkunft[1] und auch besonders über die des Menschen außerordentlich viele Untersuchungen vorliegen, ist nur noch die Schweinepankreasesterase recht oft angewandt worden. Es erscheint daher nicht unwichtig, das esterspaltende Enzym des Menschenpankreas genauer zu studieren und mit der hepatischen menschlichen Esterase zu vergleichen. *Willstätter* und *Memmen*[2] haben bekanntlich als erste die Schweinepankreas- mit der Schweineleberesterase verglichen. Inzwischen sind aber die Kenntnisse über die Organesterasen und speziell die Menschenleberesterase wesentlich erweitert worden, dazu kommen noch die Erfahrungen über die synthetisierende Wirkung der Organtrockenpulver, so daß ein Vergleich zwischen den beiden menschlichen Esterasen angezeigt erscheint.

Von der Menschenleberesterase ist bekannt, daß sie bei der Spaltung von Mandelsäureestern eine Konfigurationsspezifität zeigt, die abhängig von der Ausgangssubstratkonzentration[3] ist. Diese stereochemische Spezifität ist ferner bei der Spaltung von d, l-Methyl- und Äthylmandelat durch Zusatz von Strychninnitrat[4] beeinflußbar.

---

[1] Literatur siehe *Rona* u. *Ammon*: *Nord-Weidenhagen*, Ergebn. d. Enzymforsch. **2**, 1933; ferner *Kernot* u. *Hills*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **208**, 33, 39, 1932; **215**, 8, 1933.

[2] Ebenda **138**, 216, 1924; *Willstätter*, *Kuhn* u. *Bamann*, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **61**, 886, 1928; *Weber* u. *Ammon*, diese Zeitschr. **204**, 197, 1929.

[3] *Bamann*, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **62**, 1538, 1929; *Bamann* u. *Laeverenz*, ebenda **63**, 394, 1930; Zeitschr. f. physiol. Chem. **193**, 201, 1930; Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **63**, 2939, 1930; **64**, 897, 1931; *Rona*, *Fischgold* u. *Ammon*, diese Zeitschr. **228**, 77, 1930; *Ammon* u. *Fischgold*, ebenda **234**, 54, 1931; *Fischgold* u. *Ammon*, ebenda **246**, 463, 1932; **247**, 338, 1932; *Ammon* u. *Geisler*, ebenda **249**, 470, 1932; Virchows Arch. **285**, 286, 1932; *Schwab*, *Bamann* u. *Laeverenz*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **215**, 121, 1933; *Bamann*, *Mahdihassan* u. *Laeverenz*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **215**, 142, 1933.

[4] *Bamann* u. *Laeverenz*, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **63**, 394, 1930; *Ammon* u. *Fischgold*, diese Zeitschr. **234**, 54, 1931.

Es wurden daher Menschenpankreasauszüge auf ihre hydrolysierende Wirkung auf Mandelsäureester geprüft, wobei eine eventuelle Abhängigkeit des optischen Auswahlvermögens dieser Esterase bei der Spaltung von d, l-Methyl- und d, l-Propylmandelat, ferner eine etwaige Beeinflussung des Ferments durch Strychninnitratzusatz experimentell sichergestellt bzw. abgelehnt werden sollte. Hieran anschließend wurden einige Versuche angestellt, die den Einfluß von Menschenleber- und Pankreasesterase zusammen auf den d, l-Mandelsäuremethylester bei Variation der Substratkonzentrationen demonstrieren.

Das Pankreaspulver wurde schließlich noch benutzt, um einige Aussagen über seine esterbildende Wirkung machen zu können. Hierbei wurde noch eine früher am Schweinepankreas- und Menschenleberpulver gemachte Beobachtung erweitert. Die Pulver[1] wurden nämlich durch Erhitzen auf 100° nicht völlig inaktiviert. *Sym*[2] konnte diesen Befund noch dahin erweitern, daß Schweinepankreaspulver seine esterbildende Wirksamkeit nach einer gewissen Zeit wiedergewinnt. Wir haben ebenfalls durch Erhitzen weitgehend inaktiviertes Menschenpankreaspulver zu Syntheseversuchen benutzt, wobei wir gleichzeitig auch die hydrolysierende Wirkung von Auszügen des erhitzten Pulvers untersuchten. Hierbei studierten wir die Hydrolyse von d, l-Mandelsäuremethylester. Denn nach Versuchen von *Bamann* und *Laeverenz* zeigten Auszüge von Menschenleberpulver, das einige Tage im Trockenschrank bei 60 bis 65° gedörrt wurde, bei der Spaltung von d, l-Äthylmandelat[3] ein anderes optisches Auswahlvermögen.

Als Ausgangsmaterial zur Herstellung der Organ-Aceton-Äther-Trockenpulver dienten normale menschliche Bauchspeicheldrüsen von Erwachsenen. Aus einem Pankreas, das durchschnittlich 85 bis 90 g wiegt[4], wurden etwa 2,5 g Pulver gewonnen. Es wurden daher immer mehrere Organe zusammen verarbeitet. Die Organe selbst zeigten makroskopisch keine pathologischen Veränderungen. Es wurden auch nur Organe genommen, die frisch waren[5]. Vom Pulver wurden Auszüge mit $^1/_{40}$ n Ammoniak (6 g Pulver auf 100 ccm Ammoniak, 2 Stunden bei 37° im Schüttelschrank) hergestellt, die neutralisiert und zentrifugiert wurden und sich unter Toluol einige Tage im Eisschrank hielten. Einmal wurde ein Glycerinauszug (6 g auf 100 ccm) aus dem Pulver hergestellt. Dieser Extrakt zeigte eine sehr schwache Wirkung auf Mandelsäuremethylester[6]. Zur Hydrolyse

[1] *Rona, Ammon* u. *Trurnit*, diese Zeitschr. **247**, 100, 1932.

[2] Ebenda **258**, 304, 1933.

[3] *Bamann* u. *Laeverenz*, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **63**, 2939, 1930.

[4] *Rössle*, Sektionstechnik. Berlin, Springer, 1932.

[5] Vgl. die Ergebnisse über den Fermentgehalt des Pankreas bei verschiedensten Erkrankungen: *Baló* u. *Lovas*, Virchows Arch. **288**, 326, 1933.

[6] Vgl. auch die ähnlichen Befunde zu Kaninchen-, Ratten- und Meerschweinchenleberextrakten von *S. L. Malowan*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **88**, 579, 1933.

wurden d, l-Methyl- und Propylmandelat benutzt[1]. Die Hydrolyse der Mandelsäureester wurden nach der elektrotitrimetrischen Methode von *Rona* und *Ammon* verfolgt, wobei uns ein Minimalpotentiator von *Goldschmidt* wertvolle Dienste leistete[2]. Die chemische Aufarbeitung und Isolierung der vom Ferment aus dem Ester in Freiheit gesetzten Mandelsäure erfolgte nach dem in den früheren Arbeiten geübten Verfahren. Die Eigenhydrolyse, die in besonderen Versuchen bestimmt wurde, ist gering und proportional der Zeit. In 1 Stunde wurden bei 37° von einer 1%igen Methylmandelatlösung 0,37% gespalten. Die Eigenhydrolyse wurde bei den einzelnen Versuchen nicht berücksichtigt, da das Gesamtergebnis dadurch nicht geändert wird. Sie macht allerdings bei den Regenerationsversuchen (s. dort) wegen der geringen fermentativen Wirkung etwa 50% der Werte aus. Für die Synthese wurden Lösungen von m/10 Ölsäure bzw. m/10 Buttersäure in n-Butylalkohol, der 5% Wasser enthielt, benutzt. Auf je 0,5 g Pulver kamen 50 ccm der Lösung. Die Syntheseansätze schüttelten bei 37° in einem Brutschrank. Die jeweils eingetretene Esterbildung wurde durch Titration von zu bestimmten Zeiten entnommenen Proben ermittelt. Die Eigenveresterung ist praktisch nicht meßbar. Die „Fermentsäure"[3], d. h. die Säureabgabe des Pulvers in der butylalkoholischen Lösung war so gering, daß sie vernachlässigt werden konnte.

I. Die Spaltung von d, l-Methyl- und Propylmandelat.

Tabelle I.

Versuch Nr.	Fermentauszug und -menge	Gesamtanfangsvol. in ccm	Ester, Art und Menge	Spaltungsdauer	Spaltungsgrad in %	$[\alpha]_D$ der in Freiheit gesetzten Mandelsäure
1	50 ccm Pankreas I . .	250	0,4% Methylmandelat	4h 50′	12,8	— 36,36
2	50 „ „ II . .	250	0,4% „	6 15	12,8	— 44,88
3	50 „ „ IX . .	250	0,4% „	5 15	12,8	— 37,43
4	20 „ „ I . .	100	1% „	6 20	12,8	— 46,23
5	25 „ „ I . .	100	1% „	6 5	12,8	— 39,27
6	20 „ „ II . .	100	1% „	6 55	12,8	— 50,25
7	20 „ „ IX . .	100	1% „	6 20	12,8	— 45,99
8	10 „ „ I . .	50	2% „	8 10	12,8	— 42,35
9	10 „ „ IX . .	50	2% „	9 10	12,8	— 50,11
10	25 „ „ I + 0,1% Strychnin .	100	1% „	5 35	12,8	— 45,19
11	20 ccm Pankreas II + 0,2% Strychnin .	100	1% „	5 55	12,8	— 44,34
12	50 ccm Pankreas II . .	250	0,4% Propylmandelat	4 10	12,8	— 20,94
13	50 „ „ IX . .	250	0,4% „	6 50	12,8	— 26,21
14	25 „ „ II . .	100	1% „	8 45	12,8	— 29,33
15	10 „ „ IX . .	50	2% „	15 45	12,8	— 15,91

[1] *Ammon* u. *Geisler*, diese Zeitschr. **249**, 470, 1932.

[2] Herrn Ing. *Goldschmidt* sind wir für die Überlassung des Apparates zu Dank verpflichtet.

[3] *Rona*, *Ammon* und *Fischgold*, diese Zeitschr. **241**, 460, 1931.

Die menschliche Pankreasesterase zeigt also eine ausgesprochene Konfigurationsspezifität bei ihrer hydrolysierenden Wirkung auf d, l-Mandelsäuremethyl- und Propylester, und zwar spaltet sie die l-Form schneller, denn die vom Ferment aus dem Ester in Freiheit gesetzte und isolierte Mandelsäure ist linksdrehend. Das optische Auswahlvermögen ist unabhängig von der Substratanfangskonzentration. Beides gilt sowohl für die Spaltung des Methyl- als auch des Propylmandelats. Strychninzusatz ist ohne wesentlichen Einfluß auf die Geschwindigkeit der Spaltung und die optische Orientierung.

II. Die Spaltung von d, l-Methylmandelat durch Menschenpankreas- und Leberesterase.

Tabelle II.

Versuch Nr.	Fermentauszug und -menge	Gesamtanfangsvol. in ccm	Ester, Art und Menge	Spaltungsdauer	Spaltungsgrad in %	$[\alpha]_D$ der in Freiheit gesetzten Mandelsäure
1	20 ccm Leber	200	0,5 % Methylmandelat	1h 20′	12,8	— 46,71
2	10 „ „	100	1 % „	2 10	12,8	— 24,25
3	5 „ „	50	2 % „	5 —	12,8	+ 1,81
4	10 „ „	50	2 % „	2 20	12,8	0
5	10 „ „	50	2 % „	1 45	9,15	+ 0,865
6	25 „ „ + 50 ccm Pankreas IX	250	0,4 % „	2 25	12,8	— 35,1
7	7 ccm Leber + 20 ccm Pankreas II	100	1 % „	4 20	12,8	— 47,65
8	3,5 ccm Leber + 10 ccm Pankreas II	50	2 % „	7 25	11,1	— 41,97
9	5 ccm Leber + 10 ccm Pankreas IX	50	2 % „	7 45	12,8	— 42,14
10	10 ccm Leber + 5 ccm Pankreas IX	50	2 % „	9 15	12,8	— 20,45
11	5 ccm Leber + 10 ccm Auszug von Pankreas IX auf 120° erhitzt	50	2 % „	4 30	12,8	+ 1,55

Die hier mitgeteilten Versuche, die wir wegen des Nachweises einer möglichen Beeinflussung beider Fermente aufeinander angestellt haben, zeigen, daß im wesentlichen nur das Pankreasenzym wirksam ist, obwohl das lipatische Pankreasferment des Mandelsäureester schlechter als Menschenleberesterase spaltet. Die für dieses Ferment charakteristische Substratinversion ist bei den Versuchen mit beiden verschiedenen Fermenten nicht mehr feststellbar. Dagegen tritt diese bei entsprechender Konzentration wieder auf, wenn ein Auszug aus einem Pankreaspulver, das 2 Stunden bei 120° erhitzt worden ist, mit Leberextrakt zusammen benutzt wird. Das Pulver ist nach dieser Vorbehandlung weitgehend inaktiviert, was sich auch bei Syntheseversuchen (s. weiter unten) ergibt.

III. Die butylbutyrat- und butyloleatbildende Wirkung des Menschenpankreaspulvers.

Tabelle III.

Zeit in Std.	Synthese in %							
	Buttersäure				Ölsäure			
	normales			2 Std. auf 100° erhitztes	normales			2 Std. auf 100° erhitztes
	Pankreas I	Pankreas III	Pankreas IX	Pankreas IX	Pankreas I	Pankreas III	Pankreas IX	Pankreas IX
1½	16,6	—	—	—	35,1	—	—	—
3	34,0	17,4	19,0	—	51,6	32,4	31,2	—
4	42,8	—	25,0	8,0	70,2	—	40,0	13,2
5	—	—	30,0	—	—	—	46,9	—
6	—	—	36,2	—	—	—	52,9	—
22	—	71,1	—	—	—	78,2	—	—
23	77,8	—	—	—	80,5	—	—	—
23½	—	—	77,2	—	—	—	80,0	—
24	79,2	—	—	—	80,5	—	—	—
24½	—	—	—	42,7	—	—	—	58,1
25	—	72,8	—	—	—	78,2	—	—
45	—	80,2	—	—	—	—	—	—
50	—	—	—	64,9	—	—	—	75,3
75	—	—	—	73,8	—	—	—	79,7
124	—	—	—	80,6	—	—	—	80,9

Die synthetisierende Wirkung der menschlichen Pankreaspräparate (s. Tabelle III) ist gut, wie bei Schweinepankreaspräparaten, im Gegensatz zu der schlechteren Synthese der Leberpräparate von Mensch und Schwein[1], die sich darin äußert, daß man wesentlich größere Pulvermengen anwenden muß als bei Versuchen mit Schweinepankreaspulver. Die Tabelle zeigt außerdem die Inaktivierung der Menschenpankreasesterase durch zweistündiges Erhitzen auf 100° (s. weiter unten).

IV. Inaktivierungsversuche.

Tabelle IV.

Versuch Nr.	Fermentauszug und -menge	Dauer der Regeneration in Tagen	Spaltungsdauer	Spaltungsgrad in %	$[\alpha]_D$ der in Freiheit gesetzten Mandelsäure
1	*Nicht* erhitztes Pankreas IX	Grundversuch	6h 20′	12,8	—45,99°
2	„ „ „ IX	—	2 25	4,36	—28,83
3	20 % *erhitztes* Pankreas IX	0	6 20	4,15	— 9,25
4	20 % „ „ IX	7	6 20	4,15	— 7,18
5	20 % „ „ IX	21	6 20	4,65	— 11,23
6	20 % „ „ IX	32	6 20	5,05	— 15,62
7	20 % „ „ IX	66	6 20	5,2	— 10,95

[1] *Rona, Ammon* u. *Werner*, diese Zeitschr. **221**, 381, 1930; *Rona* u. *Mühlbock*, ebenda **223**, 130, 1930 und zahlreiche unveröffentlichte Versuche; vgl. ferner *Sym*, diese Zeitschr. **262**, 406, 1933.

Die von *Sym* (l. c.) aufgefundene und theoretisch sehr interessante Regenerationsmöglichkeit des Schweinepankreaspulvers läßt sich für das Menschenpankreas unter den von uns angewandten Versuchsbedingungen nicht feststellen. Wir beobachteten, daß durch ein zweistündiges Erhitzen des Pulvers auf etwa 100° die synthetisierende Wirkung (Butyloleat und Butylbutyrat) herabgesetzt wird. (Die Versuchsbedingungen sind die gleichen wie bei den unerhitzten Pulvern; s. Tabelle III.) Erhitzen auf 110° vermindert die esterbildende Fähigkeit noch weiter. Wir haben eine eventuelle Regeneration des Pulvers nach folgendem Ansatz erweisen wollen. In Fläschchen abgewogene Mengen eines Pankreaspulvers wurden 2 Stunden bei 100° im Trockenschrank gedörrt. Danach wurden mit einigen Pulvern sofort Syntheseversuche gemacht (Oleat- und Butyratester) und Ammoniakauszüge bereitet. Diese Versuche wurden in Intervallen bis zu 66 Tagen ausgedehnt. Sowohl bei den Synthese- als auch Hydrolyseversuchen ergab sich keine eindeutige Feststellung einer Regeneration. Die Butter- und Ölsäureesterbildung des durch Erhitzen teilweise inaktivierten Pulvers blieb bis zum Schluß annähernd gleichmäßig hinter der Wirkung unvorbehandelten Pulvers zurück. Tabelle IV gibt die Spaltungsgrade und $[\alpha]_D$-Werte der in Freiheit gesetzten und isolierten Mandelsäure bei der Hydrolyse von je 100 ccm einer 1%igen wässerigen Lösung von d, l-Mandelsäuremethylestern durch in bestimmten Zeitintervallen hergestellte NH_3-Extrakte aus dem gedörrten Pulver wieder. Auch da läßt sich keine Regeneration feststellen; wohl aber zeigt sich eine Herabsetzung des optischen Auswahlvermögens des Ferments. Bemerkenswert ist bei diesen Versuchen, daß das Fermentpulver so sehr widerstandsfähig gegen höhere Temperaturen ist.

Zusammenfassung.

1. Die Esterase aus normalem menschlichen Pankreas spaltet racemische Mandelsäuremethyl- und Propylester unter Bevorzugung des l-Esters. Das Ferment zeigt im Gegensatz zur Menschenleberesterase keine Beeinflußbarkeit durch die Ausgangssubstratkonzentration bzw. durch Strychninnitratzusatz.

2. Das Pulver zeigt eine gute synthetisierende Wirkung bei der Bildung von n-Butylbutyrat und n-Butyloleat.

3. Es wurden einige Versuche über eine mögliche Regeneration des durch Erhitzen weitgehend inaktivierten Pankreaspulvers gemacht. Eine Regeneration ist nicht eindeutig feststellbar, wohl eine Beeinflussung der Konfigurationsspezifität der Menschenpankreasesterase durch das Erhitzen. Ferner wurden einige Versuche ausgeführt, in denen Pankreas- und Leberextrakt zusammen auf d, l-Methylmandelat einwirkten. Es zeigte sich, daß das Pankreasenzym unabhängig von der gleichzeitg anwesenden Leberesterase den Mandelsäuremethylester spaltet.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535701_0138

Lebenslauf

Am 7. 1. 1910 wurde ich, Ernst August Oskar Tabor, zu Berlin als Sohn des Lehrers August Tabor und seiner Ehefrau Helene geb. Hoppe, geboren. Von Ostern 1916 bis 1920 besuchte ich die 43. Volksschule. Dann kam ich auf das Dorotheenstädt. Realgymnasium zu Berlin, das ich ohne Unterbrechung durchlief. Nach Ablegung der Reifeprüfung Ostern 1929 begann ich das Medizinstudium an der Friedrich-Wilhelm-Universität Berlin, wo ich im Juli 1931 die Aerztliche Vorprüfung bestand. Nach einem Semester in Königsberg begann ich im April 1933 in der Chem. Abteilung des Pathologischen Instituts der Charité zu Berlin unter Leitung von Herrn Dr. Ammon vorliegende Versuche anzustellen, die ich im September desselben Jahres abschließen konnte. — Die ärztliche Prüfung bestand ich am 12. 3. 35. in Berlin. Mein Medizinal-Praktikanten-Jahr verbrachte ich im Augusta-Hospital, Berlin, auf der Inneren und der Chirurgischen Abteilung.